



MINISTÈRE DES AFFAIRES ÉCONOMIQUES

N° 857.389

Classif. Internat.: C 07 G / A 61 K

Mis en lecture le:

01-12-1977

Le Ministre des Affaires Économiques,

Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention;

Vu le procès-verbal dressé le 2 août 1977 à 15 h.15

au Service de la Propriété industrielle;

## ARRÊTE :

Article 1. — Il est délivré à la Sté dite : MARBEX FINANCE LIMITED,  
Clement House, 99 Aldwych, London WC2B 4JY, (Grande-Bretagne),

repr. par les Bureaux Vander Haeghen à Bruxelles,

un brevet d'invention pour: Procédé de préparation de chondroïtines-sulfates de  
métaux alcalins et alcalino-terreux d'un poids moléculaire de 3000 à  
6000.

Article 2. — Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et  
périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit  
de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.

Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention  
(mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui  
de sa demande de brevet.

Bruxelles, le 31 août 1977.

PAR DÉLÉGATION SPÉCIALE:

Le Directeur

  
A. SCHURMANS

BEST AVAILABLE COPY

LHG/AV JL/34058  
B. 70.000 DS

## DESCRIPTION

jointe à une demande de

## BREVET BELGE

déposée par la société dite :

MARBEX FINANCE LIMITED

ayant pour objet: Procédé de préparation de chondroïtines-  
sulfates de métaux alcalins et alcalino-  
terreux d'un poids moléculaire de 3000 à  
6000

---

Qualification proposée: BREVET D'INVENTION

Or, il s'est avéré que les chondroïtines-sulfates sous forme de sels de métaux alcalins ou alcalino-terreux d'un poids moléculaire plus réduit sont nettement plus efficaces que les substances analogues d'un poids moléculaire plus élevé. Les chondroïtines-sulfates à bas poids moléculaire sont jusqu'à

présent obtenus à partir des préparations du commerce par diverses techniques d'hydrolyse, mais leur degré de pureté laisse encore à désirer, et leur administration par voie intraveineuse ou parentérale peut provoquer un choc anaphylactique.

La demanderesse s'était par conséquent fixée comme but de développer un procédé permettant de préparer, à l'échelle industrielle, à partir de la substance brute actuellement disponible ou à partir de substances intermédiaires, des chondroïtines-sulfates d'un poids moléculaire de l'ordre de 3000 à 6000 d'un degré de pureté élevé et convenant pour l'administration par voie intraveineuse ou parentérale sans risque d'effets indésirables.

Conformément à l'invention, le procédé de préparation de sels de métaux alcalins et alcalino-terreux de l'acide chondroïtine-sulfurique de bas poids moléculaire et d'une grande pureté consiste à soumettre la solution aqueuse d'un chondroïtine-sulfate brut, traité au préalable avec du kaolin et du charbon activé, à une hydrolyse à température accrue par l'acide trichloracétique et l'acide chlorhydrique, à filtrer la solution réactionnelle après refroidissement et addition de charbon activé, à ajuster le pH du filtrat entre 5 et 6 à l'aide d'un carbonate de métal alcalin ou alcalino-terreux, à séparer le sel formé après addition d'un alcool et à recristalliser le sel séparé dans un alcool aqueux.

Le mode opératoire pour la préparation d'un chondroïtine-sulfate de calcium de bas poids moléculaire et d'une grande pureté à partir d'un chondroïtine-sulfate brut est décrit ci-après.

La solution aqueuse d'un chondroïtine-sulfate brut est traitée à 5 reprises avec du kaolin, puis à 5 reprises avec du charbon activé, chaque traitement étant suivi d'une filtration ou centrifugation. Le dernier filtrat est ensuite soumis à une élution sur une colonne de résine Dowex 50W-X1 et l'éluat est concentré à pression réduite et à une température inférieure à 40°C jusqu'à l'obtention d'une solution à 10% en acide chondroïtine-sulfurique. A cette solution, on ajoute ensuite de l'acide trichloracétique et de l'acide chlorhydrique en des proportions suffisantes pour obtenir une concentration 0,5 molaire en chacun de ces acides. Après un chauffage de 5 heures entre 70 et 85°C, la solution est rapidement refroidie et filtrée après addition de charbon activé. Le pH du filtrat est ensuite ajusté entre 5 et 6 par addition de carbonate de calcium, le chondroïtine-sulfate de calcium étant précipité par addition de 6 volumes d'éthanol aqueux à 95%. Le précipité séparé est redissous dans de l'eau, la solution aqueuse est traitée avec du charbon activé et filtrée et le sel séparé est cristallisé dans de l'éthanol aqueux à 95%.

Le sel de calcium ainsi préparé peut être dissous dans l'eau et de l'acide chondroïtine-sulfurique libre obtenu par traitement de cette solution avec une résine Dowex 50W-X1. En concentrant un échantillon de cette solution sous vide, à une température inférieure

à 40°C, jusqu'à une teneur en acide de 10%, et en y ajoutant du carbonate de sodium, l'addition de 6 volumes d'éthanol aqueux à 95 % provoque la précipitation de chondroïtine-sulfate de sodium, qui peut être séparé par centrifugation. Le tableau 1 ci-après résume les poids moléculaires, déterminés par voie osmométrique, et les teneurs en azote, en soufre et en hexosamine, de chondroïtines-sulfates de sodium, préparés par le procédé ci-dessus à partir de 10 échantillons différents d'acide chondroïtine-sulfurique brut. L'absence de matières protéiques est confirmée par un essai au biuret et par l'essai de Lawry.

Résultats de l'analyse d'échantillons de chondroïtine-sulfate de sodium purifié

Le procédé suivant l'invention est illustré par l'exemple non limitatif d'un mode de mise en oeuvre ci-après.

50 kg d'un chondroïtine-sulfate de sodium brut du commerce sont dissous dans 500 l d'eau et cette solution est agitée à 5 reprises pendant 60 mn avec 50 kg de kaolin. Chaque traitement au kaolin est suivi d'une centrifugation et de l'addition de kaolin

frais. La solution centrifugée est ensuite agitée à cinq reprises pendant 60 mn avec 5 kg de charbon activé, chaque traitement étant suivi d'une filtration et de l'addition de charbon frais. Le dernier filtrat, parfaitement limpide, est ensuite élué sur une colonne de résine Dowex 50W-X1, l'éluat d'un volume d'environ 3000 l étant concentré sous un vide de 100 mm de Hg et à une température inférieure à 40°C jusqu'à un volume résiduel de 500 l.

Après addition de 40 g d'acide trichloracétique et de 50 l d'acide chlorhydrique aqueux à 36%, la solution est chauffée pendant 5 heures à 75°C, puis rapidement refroidie vers 25°C.

La solution réactionnelle est ensuite soumise à nouveau à 5 reprises à une agitation de 60 mn avec 50 kg de kaolin et à 5 reprises à une agitation de 60 mn avec 5 kg de charbon activé, de la manière décrite plus haut, chaque traitement étant suivi d'une centrifugation ou filtration.

Le pH du dernier filtrat limpide est ensuite ajusté à 5,3 par addition de 901 g de carbonate de calcium solide. En l'espace de 2 heures, on ajoute ensuite 2500 l d'éthanol aqueux à 95%, et après 6 heures d'agitation, le chondroïtine-sulfate de calcium précipité est séparé par centrifugation. Les 40 kg du produit blanc sec obtenu sont dissous dans 40 l d'eau, on y ajoute 2 kg de charbon activé, filtre la solution et dilue le



filtrat par l'addition en l'espace de 2 heures de 2000 l d'éthanol aqueux à 95 %.

Après 6 heures d'agitation, on sépare par filtration 34 kg de chondroïtine-sulfate de calcium sec sous forme d'un produit blanc, dont la solution dans 200 l d'eau est soumise à une élution sur de la résine Dowex 50W-X1. Après concentration des 1500 l d'éluat sous vide et à une température inférieure à 40°C jusqu'à un volume résiduel de 300 l, on ajoute 10 kg de carbonate de sodium et 1500 l d'éthanol aqueux à 95%. Après 6 heures d'une agitation modérée de la solution, on récolte par centrifugation 32 kg de chondroïtine-sulfate de sodium pur. L'analyse du composé ainsi obtenu correspond à celle donnée dans le tableau I pour la préparation 1.

#### REVENDECATIONS

1.- Procédé de préparation de sels de métaux alcalins et alcalino-terreux de l'acide chondroïtine-sulfurique de bas poids moléculaire et d'une grande pureté par hydrolyse acide à température accrue, caractérisé en ce que l'on soumet la solution aqueuse d'un chondroïtine-sulfate brut, traité au préalable avec du kaolin et du charbon activé, à une hydrolyse par l'acide trichloracétique et l'acide chlorhydrique, on filtre la solution réactionnelle après refroidissement et addition de charbon activé, on ajuste le pH du filtrat entre 5 et 6 à l'aide d'un carbonate de métal alcalin ou alcalino-terreux, on sépare le sel formé après addition d'un alcool et on recristallise le sel séparé dans un alcool aqueux.

2.- Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que l'alcool est de l'éthanol.

3.- Procédé suivant l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que le chondroïtine-sulfate de métal alcalin ou de métal alcalino-terreux obtenu est transformé en acide chondroïtine-sulfurique libre par élution de la solution aqueuse du sel sur une résine échangeuse de cations, concentration de l'éluat jusqu'à une teneur en acide de 10%, addition d'un carbonate de métal alcalin ou de métal alcalino-terreux, précipitation du chondroïtine-sulfate formé par addition d'un alcool et séparation du précipité par centrifugation.

4.- Procédé suivant l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le carbonate ajouté est le carbonate de calcium.

5.- Procédé suivant la revendication 4, caractérisé en ce que l'éluat est concentré sous pression réduite à une température inférieure à 40°C.

6.- Procédé suivant l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que l'acide trichloracétique et l'acide chlorhydrique sont ajoutés en des proportions suffisantes pour obtenir une concentration 0,5 molaire en chacun des acides.

7.- Procédé suivant l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que la séparation du chondroïtine-sulfate de calcium est provoquée par addition de 6 volumes d'éthanol aqueux à 95%.

8.- Procédé suivant la revendication 3, caractérisé en ce que le chondroïtine-sulfate de calcium préparé est utilisé pour l'obtention d'un chondroïtine-sulfate de sodium, dont la précipitation est provoquée par addition de 6 volumes d'éthanol aqueux à 95%.

9.- Procédé suivant l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que la solution de départ est constituée de l'éluat d'une solution d'un chondroïtine-sulfate sur une colonne d'une résine échangeuse de cations.

10.- Procédé suivant la revendication 9, caractérisé en ce que la résine échangeuse de cations est une résine Dowex 50W-X1.

11.- Procédé suivant l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que la solution de départ contient environ ou est concentrée jusqu'à une teneur d'environ 10% en poids d'acide chondroïtine-sulfurique.

12.- Procédé de préparation d'un chondroïtine-sulfate de métal alcalin ou de métal alcalino-terreux de bas poids moléculaire, en substance, tel que décrit, en particulier dans l'exemple.

13.- Chondroïtine-sulfate de métal alcalin ou de métal alcalino-terreux de bas poids moléculaire, préparé par le procédé suivant l'une des revendications 1 à 12.

14.- Chondroïtine-sulfate de métal alcalin ou de métal alcalino-terreux suivant la revendication 13, caractérisé par un poids moléculaire compris entre 3000 et 6000.

BRUXELLES, le

12 AOUT 1977

P. Pon

*Marbes Finance Limited*

P. Pon BUREAU VANDER HAEGHEN

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**